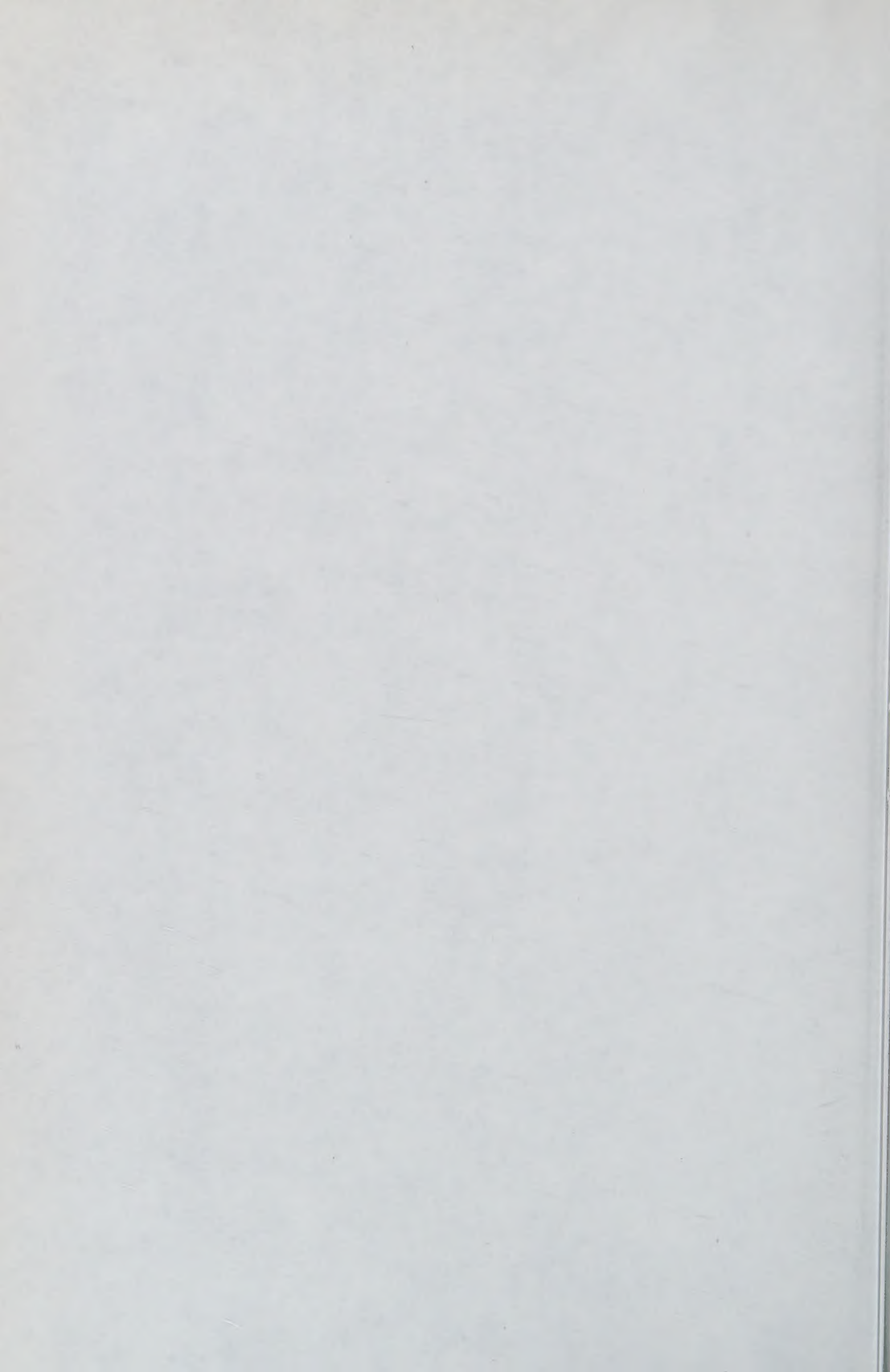




Digitized by the Internet Archive
in 2026



Aus dem Anatomischen Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. nat. A. DABELOW)

BEITRÄGE ZUR MORPHOLOGIE UND CHEMOHISTOLOGIE DES
NEBENNIERENMARKS DES GOLDHAMSTERS (*Mesocricetus auratus*)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät

der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

vorgelegt von

DIERK FRANZEN

aus Witten an der Ruhr

MAINZ 1963

Dekan: Professor Dr. Wagner

Referent: Professor Dr. Watzka

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Januar 1964



Aus dem Anatomischen Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. nat. A. DABELOW)

Beiträge zur Morphologie und Chemohistologie
des Nebennierenmarks des Goldhamsters¹⁾
(*Mesocricetus auratus*)

Von DIERK FRANZEN

Mit 11 Abbildungen im Text

(Eingegangen am 15. Oktober 1963)

I. Einleitung	35
II. Material und Technik	37
III. Befunde	
1. Morphologie	
a) Lichtmikroskopie	38
b) Phasenkontrastmikroskopie	40
c) Polarisationsmikroskopie	41
d) Primärfluoreszenz	41
2. Lipide	41
3. Polysaccharidreaktionen	45
4. Ribonukleinsäure	48
IV. Besprechung	48
V. Zusammenfassung	55
VI. Literatur	56

I. Einleitung

Von den mesenchymalen Elementen, den Nervenzellen und den Sympathikoblasten sowie den „verstreuten“ Rindenzellen abgesehen, werden seit SCHEEL (1908) und KOLMER (1918) verschiedene Nebennierenmarkzelltypen unterschieden. SCHEEL beschreibt bei *Bos taurus* dunklere randständige und hellere zentrale, KOLMER bei *Equus*, *Elephas ind.*, *Canis fam.*, *Lemur macaca* und *Macacus sinicus* helle und dunkle Zellen. Solche Zelltypen werden als verschiedene Erscheinungsformen eines Grundelementes gedeutet. HION (1927) unterscheidet sogar 4 Zelltypen einer angeblich funktionellen Reihe: 1. Schwach phäochrome Zellen mit wenig Mitochondrien, 2. stark chromierbare Zellen mit zahlreichen Mitochondrien und wenig fuchsinophilen Sekrettröpfchen, 3. Zellen ohne Mitochondrien, aber mit vielen Sekrettröpfchen, 4. Diffus chromierbare Zellen ohne Mitochondrien und Sekrettröpfchen, aber oft mit pykno-

1) Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

tischem Kern. EHRENBRAND (1959) beobachtet an den Nervenstämmchen im Nebennierenmark chromaffine intraneurale sympathikogene paraganglionäre Zellen, deren besondere funktionelle Beziehung zu den Nervenfasern im Sinne von KOHN (1930) und WATZKA (1931, 1943) er erörtert.

BÄNDER (1950) schildert fuchsinophile F-Zellen und pikrinophile P-Zellen und deutet die letzteren auf Grund quantitativ vergleichender pharmakologischer und morphologischer Untersuchungen als Adrenalinbildner. Beide Zelltypen sollen sich deutlich in ihren Kernvolumina unterscheiden. ERÄNKÖ (1952) beobachtet bei der Ratte 2 Zellarten mit unterschiedlicher alkalischer Phosphataseaktivität; nur phosphatasenegative Zellgruppen fluoreszieren nach Formolbehandlung blaugrün in ultraviolettem Licht, diese sollen Noradrenalin bilden. Die nicht fluoreszierenden Markzellen werden auf Grund von Hormonbestimmungen an durch Mikromanipulation gewonnenen Zellgruppen sowie nach vergleichenden morphologischen Befunden nach Insulin-, Nikotin- und Thyroxingabe als Adrenalinbildner angesehen (Versuche an der Ratte durch ERÄNKÖ 1951, 1952, 1955 a, b). Mit Kaliumjodat lassen sich nach HILLARP und HÖKFELT (1953, 1955) tiefgebräunte von jodnegativen Zellen unterscheiden. Diesen Autoren zufolge entsprechen die unterschiedlichen Mengen des im Nebennierenmark von Meerschweinchen, Kaninchen, Ratte und Katze vorkommenden Adrenalins bzw. Noradrenalins ungefähr den wechselnden prozentualen Anteilen kaliumjodatnegativer bzw. -positiver Zellen im Paraganglion suprarenale dieser Tiere. Schließlich trennen KRACHT und KLEIN (1958) sowie KLEIN und KRACHT (1958) an mit Eisenhämatoxylin nach WEIGERT gefärbten Schnitten chromierter Organe feingranulierte dunkelgrüne A- (Adrenalin-) Zellen von grobgranulierten gelben N- (Noradrenalin-) Zellen. Die N-Zellen sollen den nach ERÄNKÖ blaugrün fluoreszierenden sowie den nach HILLARP und HÖKFELT jodatpositiven Zellen auf Grund morphologischer Untersuchungen nach Insulin- und Nikotiningabe entsprechen.

Elektronenmikroskopischen Befunden zufolge beschreibt WETZSTEIN (1957) von ihm als Neben- und Hauptzellen bezeichnete Elemente. Die letzteren zeigen osmiophile Granula, deren Zentrum auf Insulingabe hin weniger osmiophil ist, deshalb sowie auf Grund der lebhaften Reaktion der Katecholamine mit Osmiumtetroxyd Adrenalin enthalten sollen und im Vergleich mit den lichtmikroskopisch beobachteten Körnchen phäochrome Granula genannt werden. GEYER (1959) beschreibt beim Frosch (*Rana esculenta*) Adrenalzellen, die den von WETZSTEIN beschriebenen Hauptzellen entsprechen, dagegen keinen Zelltyp im Sinne der Nebenzellen, und vermutet die Bildung von Adrenalin und Noradrenalin in den Adrenalzellen.

GRAUMANN glaubt Adrenalin und Noradrenalin bzw. deren Reaktionsprodukte bei Chromatfixation mit der Perjodsäureleukofuchsinreaktion (PJS = PAS) nachweisen zu können und beschreibt (1956 a, b) eine diffuse Reaktion in den Nebennierenmarkzellen. Die Katecholamine werden ihm zufolge in einem halbmondförmigen dem Zellkern angelagerten Komplex gebildet, durchtränken diffus das Zytoplasma

und werden schließlich an die phäochromen Granula gebunden, wobei sie ihre positive PAS-Reaktion verlieren. An der lumenwärtigen Seite des Endothels der venösen Markpapillaren beschreibt GRAUMANN kleine Tröpfchen, die einer Absonderung von Sekret entsprechen sollen. Ein Durchtritt durch das Endothel konnte allerdings nicht beobachtet werden. Daneben treten nach GRAUMANN im Zytoplasma der Nebennierenmarkszellen kugelförmige Gebilde („Systeme“ nach GRAUMANN) mit perjodreaktivem Inhalt auf, kleinere solcher Kügelchen sollen in die Markfollikel ausgeschieden werden. Sie seien streng zu trennen von den Kolloidkügelchen, die nach GRAUMANN (1956 b) Abweichungen normaler Inkretbereitung darstellen und nach FRAZAO (1952) bei Infekten gehäuft vorkommen.

Fette und Lipide lassen sich zufolge BACHMANN (1954) „im allgemeinen“ mit chemohistologischen Methoden im Nebennierenmark nicht nachweisen. WALLRAFF (1949) konnte gelegentlich mit Sudan III Lipide im Mark feststellen, während nach GRAUMANN (1956 a) hellyfixiertes Nebennierenmark des Goldhamsters sudanophob sein soll.

In den vorliegenden eigenen Untersuchungen soll an Hand morphologischer und chemohistologischer Methoden geprüft werden:

1. Ob unterschiedliche Markzelltypen generell unterschieden werden können.
2. Ob in Anlehnung an die elektronenmikroskopischen Untersuchungsergebnisse die Inkretbildung und -abgabe im Nebennierenmark lichtoptisch verfolgt werden kann.

II. Material und Technik

33 adulten Goldhamstern beiderlei Geschlechts (*Mesocricetus auratus*) wurden die Nebennieren nach Dekapitation sofort entnommen und in folgende Fixantien eingelegt: Bouin-, Carnoy- und Hellysches Gemisch sowie Formol. Ferner wurden Organe in auf pH 7,4 gepufferte Kaliumpermanganatlösung und in Kaliumjodat nach HILLARP und HÖKFELT (1953) eingebracht. Zur Chromierung kamen Nebennieren für 24 Std. in ein Gemisch aus 9 Teilen Müllerscher Flüssigkeit und einem Teil 10%igen Formol und anschließend für 3 Tage in reine Müllersche Lösung. Zum Nachweis von Esterphosphatiden nach BAKER (1946) wurden Organe in Kalzium-Formol bzw. zur Pyridinextraktion in schwache Bouinsche Lösung gegeben. Zum Vergleich der Verhältnisse an nativem Material wurden von Nebennieren sofort nach Entnahme mittels des Kryostaten (System Dittes-Duspiva) native Schnitte angefertigt und z. T. für 15 Min. in dampfförmigem Osmiumtetroxyd fixiert.

Mit Ausnahme der auf dem Kryostaten geschnittenen und der nach BAKER sowie nach HILLARP und HÖKFELT untersuchten Nebennieren wurden von den Organen 4 μ m dicke Paraffinschnitte hergestellt. Folgende Reaktionen und Färbungen kamen zur Anwendung: PAS, PAS in Kombination mit der Haleschen Reaktion sowie mit Sudanschwartz B (Merck), die Halesche Reaktion und Sudanschwartz B allein, Gallozyanin-Chromalaun, gezielte Fluorochromierung mit Akridinorange, Sekundärfluoreszenz und Versilberung nach MASSON-HAMPERL. Als weitere Färbungen wurden die nach GOLDNER, Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und die Azanmethode benutzt. Ungefärbte Schnitte wurden zu phasenkontrastmikroskopischen Untersuchungen herangezogen, an ihnen wurden auch auf Primärfluoreszenz und Anisotropie geprüft.

III. Befunde

1. Morphologie

a) Lichtmikroskopie. Die Nebennierenmarkzellen der Goldhamsters sind in Form von Zellballen oder, in der Markperipherie häufiger als im Zentrum, als sog. Follikel (GRAUMANN 1956 b, MAIER 1960) — dargestellt durch von chromaffinen Zellen epithelartig umstandene Hohlräume — angeordnet (Abb. 1, 2). Das Verhältnis von Ballen zu Follikeln sowie die Größe der einzelnen Follikel wechselt stark in den Organen verschiedener Tiere. Die Kerne follikelbildender Zellen sind in der Regel am lumenwärtigen Zellpol anzutreffen. Markballen zeigen keine oder eine sehr enge Lichtung, die für eine Umwandlung von Ballen zu Follikeln spricht. In der Wand der Follikel, öfter noch zwischen den Epithelzellen der Markballen, sind einsprossende Endothelzellen sichtbar (Abb. 2). Größere Follikel lassen in ihrem weiten Lumen oft korpuskuläre Blutbestandteile erkennen (Abb. 10). Der Epithelverband der Follikel kann Lücken aufweisen, so daß die Lichtung direkt an die Wand basaler Kapillaren angrenzt (Abb. 3) (vgl. GRAUMANN 1956 b).

In follikelbildenden paraganglionären Zellen findet sich lumenwärts vom Zellkern ein meist nur schmaler Plasmasaum, der oft in Auflösung begriffen anmutet und

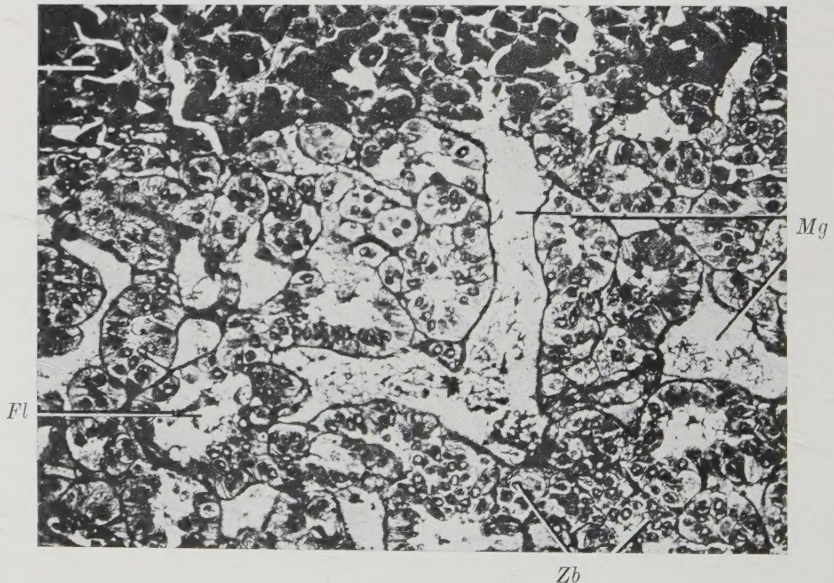


Abb. 1. Nebenniere, Goldhamster. Neben Markzellballen (Zb) sind zahlreiche Follikel (Fl) und große medialose Markgefäße (Mg) („venöse Kavernen“) anzutreffen. R Nebennierenrinde. Carnoyfixiert, Paraffinschnitt 4 μ m, Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN. 92: 1.

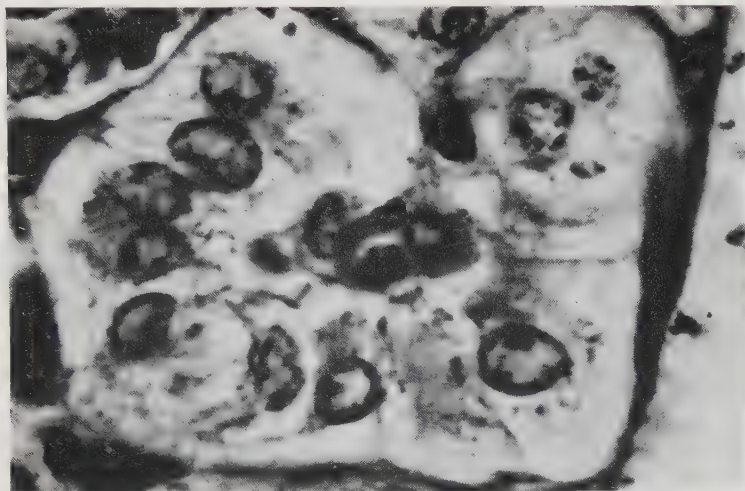


Abb. 2. Nebennierenmark, Goldhamster. In einen größeren Markzellballen von oben her eindringender Kapillarsproß. Carnoyfixiert, Paraffinschnitt $4\mu\text{m}$, Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN. 1250 : 1.

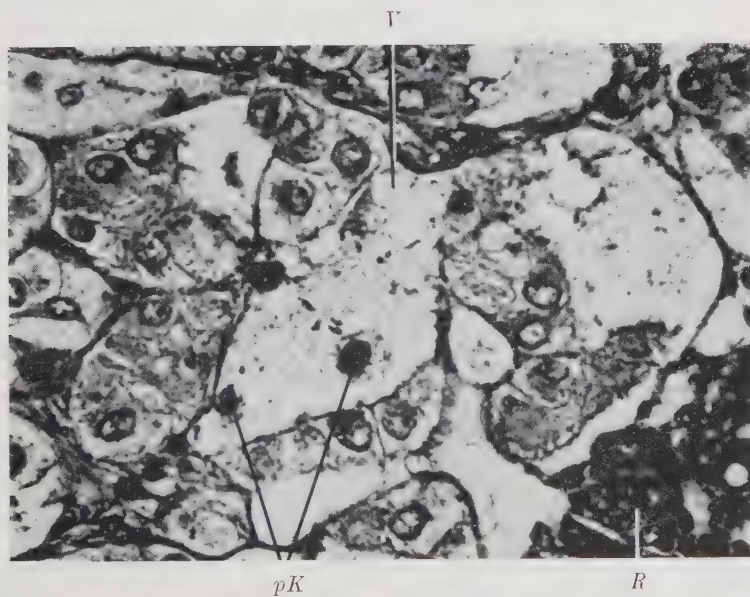


Abb. 3. Nebennierenmark, Goldhamster. Einige Markfollikel mit Vakuolen (V) und lückenhaftem Epithelverband sowie untergehenden Markzellen. *pK* pyknotische Zellkerne, *R* Nebennierenrinde. Carnoyfixiert, Paraffinschnitt $4\mu\text{m}$, Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN. 320 : 1.

an dem sich vielerorts bei allen hier angewandten Methoden leer erscheinende Blasen von Kerngröße und darüber anschließen und einen Teil der Lichtung ausfüllen (Abb. 1, 6). Zwischen diesen Vakuolen und in der Follikelrichtung sind oft Körnchen verschiedener Größe anzutreffen, daneben auffallenderweise Zellkerne im Zustand der Karyolyse (Abb. 3). Bei Anwesenheit korpuskulärer Blutbestandteile im Lumen kann ein Endothel zwischen den Blutelementen und den Follikelzellen bzw. den Vakuolen und Körnchen nicht nachgewiesen werden; eisenhämatoxylin- nach HEIDENHAIN sowie azan- und nach GOLDNER gefärbte Paraffinschnitte lassen kein Grundhäutchen erkennen. Basal des Gefäßpols der paraganglionären Zellen ist stets ein Endothel erkennbar.

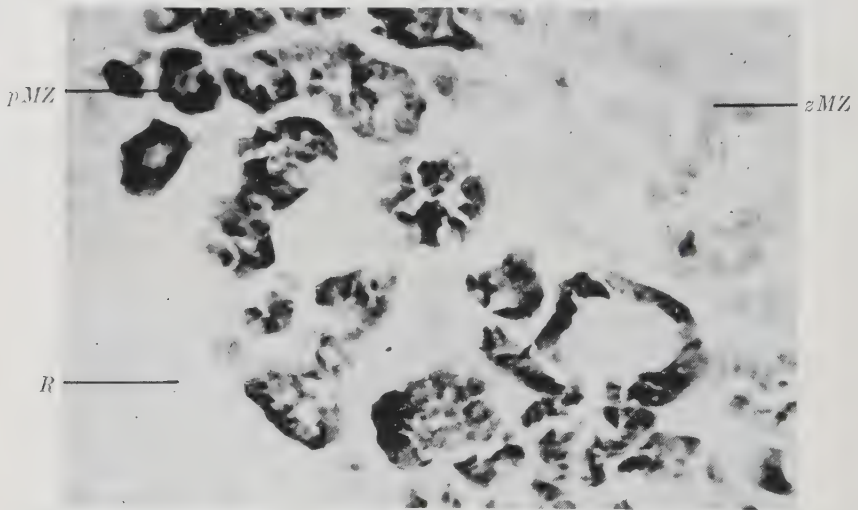


Abb. 4. Nebenniere, Goldhamster. Mit Kaliumjodat gebräunte Nebennierenmarkzellen der sog. „Markrandschale“ (KLEIN und KRACHT 1958). *pMZ* periphere (gebräunte) Markzellen, *zMZ* zentrale Markzellen, *R* Nebennierenrinde. Jodierung nach HILLARP und HÖKFELT (1955). 184:1.

b) Phasenkontrastmikroskopie. An ungefärbten Präparaten lassen sich phasenkontrastmikroskopisch Granula unterschiedlicher Größe und Verteilung erkennen. Nach Fixation in kaliumbichromathaltigen Gemischen sowie in Kaliumjodat (Abb. 4) ist eine diffuse Bräunung des Zytoplasmas der paraganglionären Zellen von einer an Körnchen gebundenen zu unterscheiden, solche Schnitte zeigen oft ein dunkles, unscharf begrenztes und halbmondförmiges Feld in Kernnähe, das möglicherweise dem Golgiapparat entspricht. Untenstehende Tabelle gibt Auskunft über die phasenkontrastoptischen Befunde nach Behandlungen des Nebennierenmarks in rindennahen und zentralen Zellgruppen:

	zentrale Zellgruppen	rindennahe Zellgruppen
Kaliumbichromat-Formol 9:1	feine Granula, Bräunung an Granula gebunden	grobe Granula Bräunung teilweise diffus, teilweise an Granula gebunden
Hellysches Gemisch	feine gleich große Granula neben „kugeligen Gebilden“ GRAUMANNs, Bräunung diffus und an Granula gebunden	
KMnO ₄	keine Granula	keine Granula
Kaliumjodat nach HILLARP und HÖKFELT	keine Granula	wenig grobe Granula, Bräunung teilweise diffus, teilweise an Granula gebunden
Pyridinextraktion (BAKER)	feine dichte Granulierung in beiden Zellgruppen	
OsO ₄ -dampffixierter Kryostatschnitt	feine dichte Granulierung in beiden Zellgruppen	

Da in nativen Kryostatschnitten kein gelber oder brauner Farbton der chromaffinen Zellen zu beobachten ist, dürfte in der noch nicht mit chromhaltigen Flüssigkeiten fixierten Nebenniere kein Adrenochrom bzw. Noradrenochrom in den paraganglionären Zellen vorliegen.

c) Polarisationsmikroskopie. Natives, mittels des Kryostaten sowie auf dem Gefriermikrotom geschnittenes Nebennierenmark läßt in den chromaffinen Zellen keine doppelbrechenden Einschlüsse erkennen.

d) Primärfluoreszenz. In ultraviolettem Licht zeigen native Kryostatschnitte keine Primärfluoreszenz seitens der Nebennierenmarkzellen. Nach 6stündigem Einstellen der Kryostatschnitte — unterschiedlicher Dicke von 5–40 μ m — in 4%iges Formol bei Zimmertemperatur ist eine blaugrüne Fluoreszenz rindennaher Markanteile zu beobachten, die allerdings schwächer als in ebenso behandelten Gefrierschnitten gleicher Dicke ist. Dies entspricht den Befunden ERÄNKÖS (1952) an Gefrierschnitten des Paraganglion suprarenale der Ratte, das jedoch ein anderes Verteilungsmuster der fluoreszierenden Zellgruppen aufweist. In dünneren Schnitten ist die Fluoreszenz so schwach, daß eine Lokalisierung innerhalb der Nebennierenmarkzellen nicht möglich ist.

2. Lipide

In Hellyschem Gemisch fixiertes Nebennierenmark läßt sich deutlich mit Sudanswarz B anfärben (Abb. 5). Da in Paraffinschnitten formolgehärteter sowie in Carnoyscher Flüssigkeit fixierter Organe keine Sudanophilie in Markzellen zu beobachten ist, andererseits im Gegensatz zu diesen Lipoide nicht erhaltenden Fixantien mit Kalzium versetztes Formol (in Form von CaCl₂, Bakertest, s. unten)

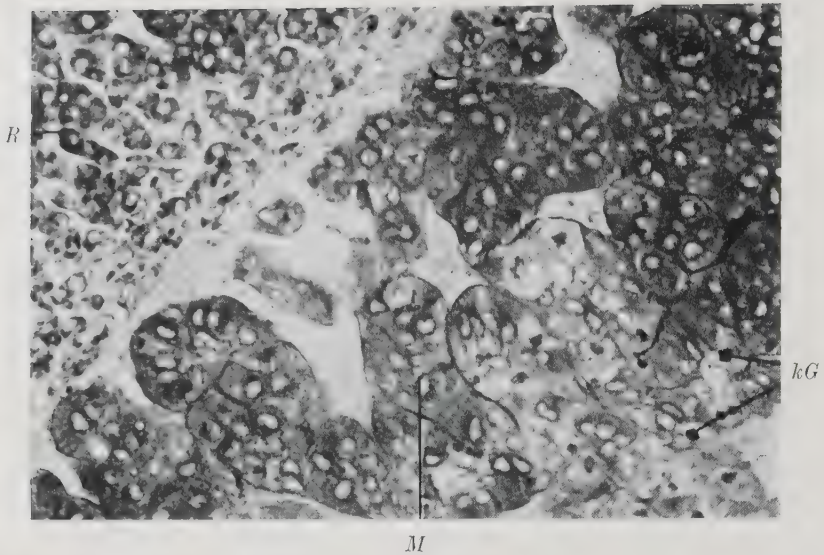


Abb. 5. Nebenniere, Goldhamster. Hellyfixiert, Paraffinschnitt $4\mu\text{m}$, Sudanschwarz B. Das Nebennierenmark (*M*) ist stärker sudanophil als die benachbarte Rinde (*R*). Im rechten unteren Bildabschnitt zahlreiche sudanophile kugelige Gebilde (*kG*). 125:1.

und das Bichromat enthaltende Hellysche Gemisch Lipide zu erhalten vermögen (PEARSE 1960), dürften hier fettähnliche Stoffe in den paraganglionären Zellen erfaßt worden sein.

Das Nebennierenmark ist nur wenig schwächer sudanophil als die benachbarte Rinde (Abb. 5), periphere Markzellgruppen, die nach ihrer Lokalisierung der „Markrandschale“ nach KLEIN und KRACHT (1958) (Abb. 4) entsprechen, sind mehr oder weniger stark vakuolisiert, aber ebenso sudanophil wie zentral liegende Gruppen chromaffiner Zellen. Die Follikellichtungen und Markgefäße, nicht aber die Rindengefäße zeigen neben den geformten Blutbestandteilen einen homogenen, grau bis schwarz tingierten Inhalt (Abb. 6). Mit Sudanschwarz lassen sich auch die von GRAUMANN (1956 b) beschriebenen kappenartigen Gebilde in der Nähe der Markzellkerns und die sog. „kugeligen Systeme“ anfärben (Abb. 6, vgl. Abb. 7). Das Zentrum dieser runden Gebilde erscheint grau, die Peripherie bröckelig schwarz. Sie liegen in kleinerer Form meist basal, die größeren können überall in den Nebennierenmarkzellen und auch in den Follikellumina angetroffen werden. Die einzelnen Markzellen sind unterschiedlich sudanophil, oft sind schmalere Zellen dunkler angefärbt als die größeren, die wiederum die beschriebenen „kugeligen Systeme“ GRAUMANNs in vermehrter Anzahl im Zytoplasma enthalten. Von diesen Gebilden abgesehen, ist das Zytoplasma der paraganglionären Zellen undeutlich und unterschiedlich dicht granuliert, so daß das tingierte Substrat vermutlich sowohl diffus als auch an Granula gebunden vorkommt.

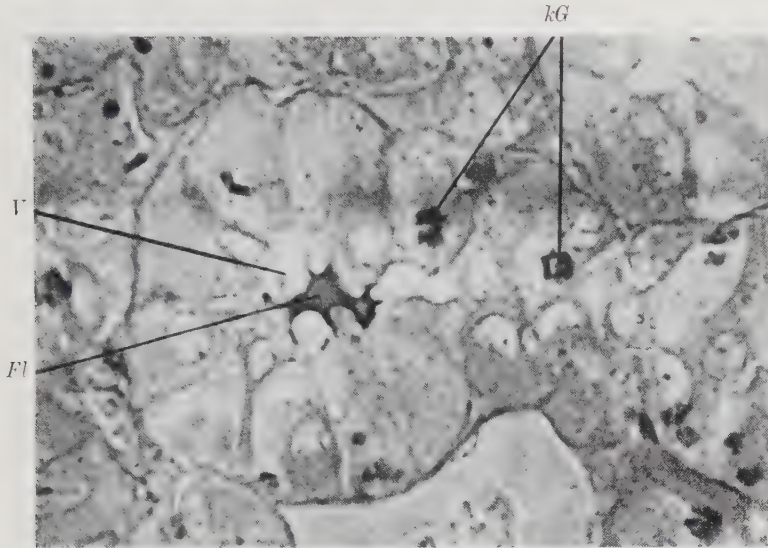


Abb. 6. Nebennierenmark, Goldhamster. Hellyfixiert, Paraffinschnitt 4μ m, Sudanschwarz B. Sudanophile kugelige Gebilde (kG) mit bröckeligem Rand im Zytoplasma der Markzellen. In der Follikelrichtung (Fl) sind Vakuolen (V) und homogene, sudanophile Massen anzutreffen. Das Markzellzytoplasma erscheint undeutlich granuliert. 815 : 1.

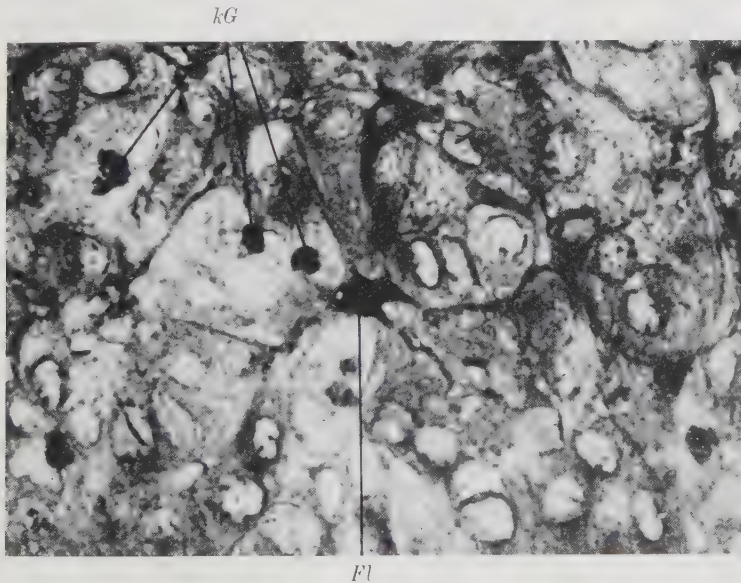


Abb. 7. Nebennierenmark, Goldhamster. PAS-positive kugelige Gebilde (kG) („kugelige Systeme“ GRAUMANNs) im Zytoplasma der Markzellen. Das Zytoplasma der Nebennierenmarkzellen erscheint gekörnt. Hellyfixiert, Paraffinschnitt 4μ m, PAS. 815 : 1.

In nativ mittels des Kryostat geschnittenen und in dampfförmigen Osmiumtetroxyd nachfixierten Organen läßt sich mit Sudanschwarz B das Nebenrindenmark fast kräftiger anfärben als die Rinde, die mehr braun tingiert wird, während das Mark anthrazitgrau erscheint. Rindennahe Zellgruppen heben sich dabei nicht von zentralen ab. Die Schwärzung ist an feine Granula gebunden, diffuse Sudanophile kann in den Markzellen nicht mit Sicherheit beobachtet werden (Abb. 8). Die kugeligen Gebilde GRAUMANNs, wie sie nach Fixierung in Hellyscher Flüssigkeit auftreten, sind hier nicht zu erkennen. An der einem Markgefäß zugewandten Zellbasis ist manchmal ein schmaler Streifen dicht gelagerter Granula sichtbar, in der Nähe des Zellkerns — zwischen diesem und der nächsten Kapillare — läßt sich oft ein dichtes Feld feinsten Körnchen beobachten, von dem aus eine Granulaanhäufung bis zum Gefäßpol der Zelle reichen kann. In den Lichtungen der Follikel kommen Granula und blaßgrau angefarbte, homogene Massen vor, letztere sind auch in den Markgefäßen sichtbar.

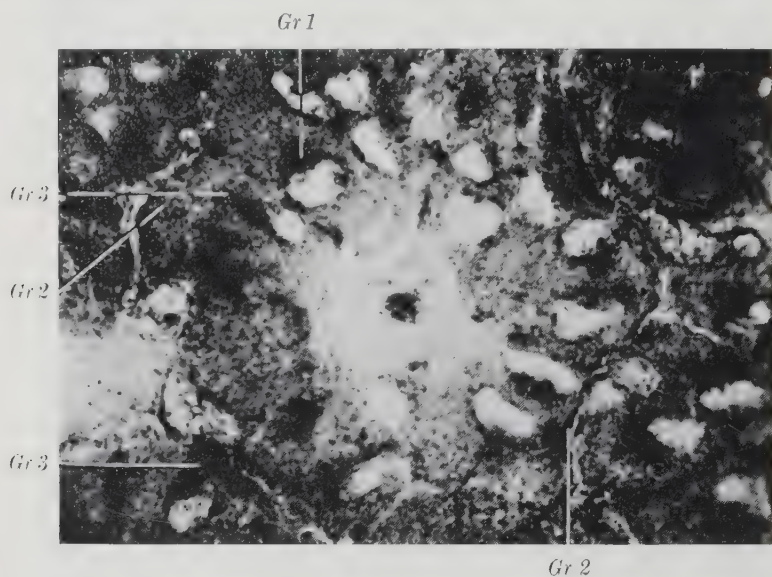


Abb. 8. Nebennierenmark, Goldhamster. Nativer Kryostatschnitt, mit dampfförmigem Osmiumtetroxyd nachfixiert, Sudanschwarz B. Die Markzellen besitzen im Zytoplasma kräftig sudanophile Granula, besonders zahlreich in Kernnähe (*Gr 1*) und am gefäßnahen Zellpol (*Gr 2*). Die Granulaanhäufung in Kernnähe ist bei *Gr 3* zur Zellbasis hin ausgezogen. 570 : 1.

Der Bakertest zeigt in den Phäochromozyten feine schwarze Granula (Abb. 9, 10). Die zentral liegenden Markzellgruppen sind etwas blasser tingiert, doch ist der Übergang von den dunkleren rindennahen Zellen zur helleren Markmitte hin kontinuierlich, so daß eine Unterscheidung zwischen zentralen schwach und peripheren stark angefarbten Markzellgruppen hier willkürlich wäre. In den Phäochromozyten sind die

Granula, deren Größe an das Auflösungsvermögen des Lichtmikroskopes grenzt, am Gefäßpol dichter gelagert als apikal, oft in Form eines schmalen Saumes. Diffus angefärbtes Material in den chromaffinen Zellen sowie homogene Massen in den Follikellichtungen oder in den Gefäßen werden nicht angetroffen. Neben den in allen Markzellen anzutreffenden feinen Granula treten weiterhin größere Körner bis zu etwa $2\mu\text{m}$ Durchmesser auf, und zwar in den Markzellen sowohl basal als auch apikal, im Follikellumen oft zwischen den farblos auf gelbem Grund erscheinenden Vakuolen und zahlreich in den Gefäßen. Bakerpositives Material kann im Endothel nicht festgestellt werden, jedoch kann seine Anwesenheit in Anbetracht der schlechten Unterscheidungsmöglichkeit zwischen Endothel und Gefäßlichtung nicht generell bestritten werden. Weder die feine noch die gröbere Granulation ist nach Pyridinextraktion erfaßbar, jedoch sind in solchen Präparaten phasenkontrastoptisch wohl die feinen, nicht aber die groben Körner sichtbar. Auch hier zeigen rindennahe und zentrale Markzellen Granula gleicher Größe.

3. Polysaccharidreaktionen

Die Halesche Reaktion fällt in nach HELLY fixierten Paraffinschnitten sowie in mit dampfförmigen Osmiumtetroxyd nachbehandelten mittels des Kryostaten nativ geschnittenen Organen gleich stark in den zentralen und den rindennahen Markzellen aus. Die von GRAUMANN beschriebenen „kugeligen Systeme“ sind nicht erfaßbar, eine Granulation im Zytoplasma der paraganglionären Zellen ist nicht mit Sicherheit

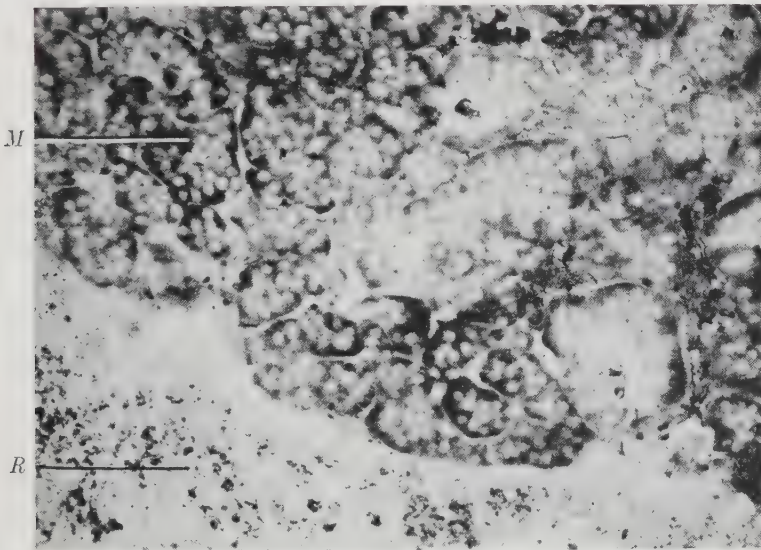


Abb. 9. Nebenniere, Goldhamster. Der Bakertest weist im Nebennierenmark (M) reichlich Phospholipide nach. R Nebennierenrinde. 92: 1.

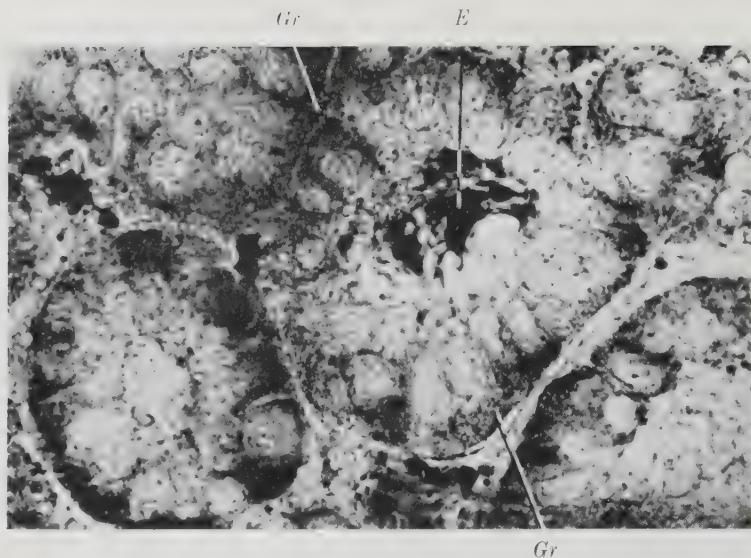


Abb. 10. Nebennierenmark, Goldhamster. Phospholipoidhaltige Granula (*Gr*) im Zytoplasma der Markzellen, vorwiegend am basalen Zellpol. In der Lichtung eines Follikels sind einige schwarz angefärbte Erythrozyten (*E*) vorhanden. Bakertest. 570 : 1.

nachzuweisen. Nach BOUTIN fixierte sowie formalgehärtete Organe sind halenegativ, in Carnoy'scher Flüssigkeit behandeltes Nebennierenmark läßt eine geringe Ablagerung des Ferrihydroxydsols im Zytoplasma der chromaffinen Zellen, vor allem in dichter Form in Kernnähe, beobachten (Abb. 11).

Die mit der Perjodsäureleukofuchsinreaktion an nach HELLY fixierten Organen erzielten Ergebnisse bestätigen die Befunde GRAUMANN'S (1956 b). PAS-positives Material tritt teilweise diffus im Zytoplasma der paraganglionären Zellen, weniger an Granula gebunden auf; kräftig tingiert erscheinen die „kugligen Systeme“ GRAUMANN'S und die in Kernnähe liegenden halbmondförmigen Gebilde („Kernkappen“). Hellere und dunklere (oft schmale) Zellen sind zu beobachten, ohne daß sie eine Zuordnung zu zentralen oder rindennahen Zellgruppen zulassen. Bei kombinierter Anwendung der Haleschen und der PAS-Reaktion treten die kugligen Gebilde GRAUMANN'S und die stärker perjodsäurereaktiven Zellen mehr rot, weniger PAS-positive Zellen mehr blau in Erscheinung. Die sog. Kernkappen sind sowohl PAS- wie auch halepositiv, also violett tingiert. Während die Rindengefäße neben den korpuskulären Blutbestandteilen halereaktiven Inhalt zeigt, erscheint der homogene Anteil des Follikellumens nur PAS-positiv und die Markgefäße mit beiden Reaktionen tingierbar. In nach CARNOY fixierten Nebennierenmark lassen sich keine „kugligen Systeme“ im Zytoplasma der chromaffinen Zellen erkennen, wohl aber konnte in einem Fall in den Präparaten eines so fixierten Organs im Zytoplasma paraganglio-

närer Zellen Kolloidkugeln (FRAŽAO 1952) beobachtet werden, die mit der Haleschen und mit Perjodsäureleukofuchsinreaktion erfaßbar sind (Abb 11). In anderen Organen konnten diese Kugeln nicht beobachtet werden.

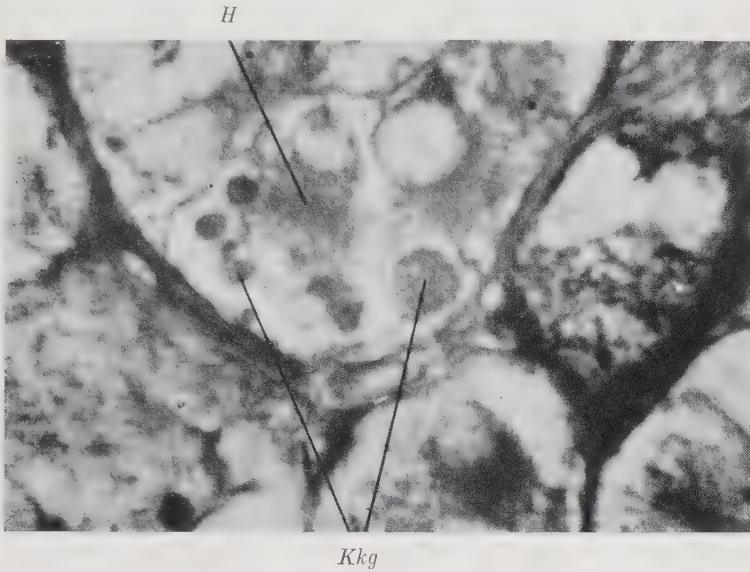


Abb. 11. Nebennierenmark, Goldhamster. PAS-positive Kolloidkugeln (*Kkg*) im Zytoplasma einiger Markzellen. In Kernnähe befindet sich halepositives Substrat (*H*). Carnoyfixiert, Paraffinschnitt 4 μ m, Hale-PAS. 1250 :1.

Werden PAS-Reaktivität und Sudanophilie in nach HELLY fixierten Nebennierenmark verglichen, so fallen folgende Übereinstimmungen auf: 1. Keine reaktionsbedingten bzw. färberischen Unterschiede zwischen rindennahen und peripheren Zellgruppen; 2. das Auftreten stark und schwach tingierter Markzellen innerhalb eines Zellballens oder Follikels; 3. diffuse und — weniger — an Granula gebundene Tinktion; 4. das Auftreten der „Kernkappen“ und „kugeligen Gebilde“ GRAUMANNs, deren letztere Peripherie bei kombinierter Anwendung beider Methoden allerdings bröckelig schwarz und das Zentrum mehr rot erscheint; 5. PAS-Reaktivität und Sudanophilie des homogenen Inhalts der Markgefäße und Follikel (Abb. 6, 7).

Formolgehärtetes sowie in Kaliumbichromat-Formol, in Kaliumpermanganat, in Carnoyseher und in Bouinscher Flüssigkeit fixiertes Nebennierenmark läßt die Darstellung obengenannter, von GRAUMANN beschriebener Gebilde mit der Perjodsäureleukofuchsinreaktion oder mit Sudanschwarz B vermissen.

An nativen, mittels des Kryostaten geschnittenen Organen ist nur eine schwache, vornehmlich an der Zellbasis vorhandene PAS-Reaktion zu beobachten.

In mit dampfförmigen Osmiumtetroxyd nachfixierten Kryostatschnitten, die nach 15 Min. Behandlung noch keine Bräunung der Markzellen aufweisen, fällt die Perjodsäureleukofuchsinreaktion wesentlich kräftiger aus. In den einzelnen Zellgruppen lassen sich, ähnlich wie nach Hellyscher Fixation, allerdings nicht so deutlich, stärker und schwächer PAS-positive Zellen unterscheiden, stets aber liegt das erfaßte Substrat in granulärer Form innerhalb der chromaffinen Zellen vor. Diffuse Rotfärbung kann in den Markzellen nicht mit Sicherheit beobachtet werden, ebenso fehlen die von GRAUMANN beschriebenen obengenannten Gebilde. In Gefäß- und Follikellichtungen sind blaßrote Massen anzutreffen. Diese mit der PAS-Reaktion erhobenen Befunde an nativ kryostatgeschnittenem und mit dampfförmigem Osmiumtetroxyd nachfixiertem Nebennierenmark zeigen eine auffallende Ähnlichkeit mit denen, die an ebenso vorbehandeltem, aber mit Sudanschwarz B gefärbtem Material erhoben und oben geschildert wurden.

4. Ribonukleinsäure

Zur Darstellung evtl. vorhandener Ribonukleinsäure wurden Paraffinschnitte nach HELLY und nach CARNOY fixierter Organe dem Brachettest (LIPP 1957, auf pH 3,6–5,4 gepufferte Methylgrün-Pyronin-Lösung) unterzogen. Die Reaktion auf zytoplasmatische Ribonukleinsäure (Ribonukleasekontrolle) war negativ. Ein gleiches Ergebnis lieferten die Färbung mit Gallozyanin-Chromalaun (auf pH 1,2–4,0 gepufferte Farblösung, Ribonukleasekontrolle) sowie die gezielte Flourochromierung mit Akridinorange.

IV. Besprechungen

1. Morphologie

Über Follikel im Nebennierenmark des Goldhamsters berichten ausführlich GRAUMANN (1956 b) und MAIER (1960). Die von diesen Autoren beschriebenen Kapillareinsprossungen treten auf Grund eigener Beobachtung weniger in Follikeln als zwischen den Zellen der Markzellballen auf. Die Bedeutung dieser Gefäßeinsprossungen liegt wohl hauptsächlich in der Zergliederung der größeren Zellballen zu kleineren Einheiten, um möglichst vielen chromaffinen Zellen einen breitflächigen Anschluß an die venösen Kavernen (WATZKA 1943) zu ermöglichen. Da häufig Übergangsformen zwischen Zellballen und Follikeln mit engem und weitem Lumen zu beobachten sind, darf angenommen werden, daß solche Ballen nicht nur eine Zerteilung erfahren, sondern sich auch zu Follikeln entwickeln können. Die in großen Follikeln oft anzutreffenden degenerativen Veränderungen in Form von sich auflösenden Zellen mit pyknotischen Kernen machen eine holokrine Sekretionsform des Nebennierenmarks wahrscheinlich. Die in manchen, meist großen Follikellichtungen anzutreffenden Blutbestandteile sowie die von GRAUMANN (1956 b) beschriebenen schmalen Lücken und breiten Dehiszenzen in Follikelepithel, Basalmembran und

Endothel sind möglicherweise als Ausdruck einer beschleunigten Resorption der im Zuge der morphokinetischen Degeneration frei werdenden Markinkrete zu deuten. In der Schilddrüse wurden von WATZKA (1934, 1942), in der Hypophyse sowie in der Nebennierenrinde von SCHARF, EHRENBRAND und FÖRSTER (1954), EHRENBRAND (1954, 1959) und SCHARF (1955) morphokinetisch-degenerative Veränderungen beschrieben, so daß ein holokriner Sekretionsmodus inkretorischer Organe unter akuter Belastung angenommen werden kann, der auch das Nebennierenmark betrifft. EHRENBRAND (1959) beschreibt zahlreiche Kernpyknosen und Karyolysen im Nebennierenmark unter experimenteller Hyperthyreose neben dabei nur selten anzutreffenden typischen Markzellen. MAIER (1960) geht sogar so weit, die holokrine Sekretion des Paraganglion suprarenale des Goldhamsters als normalerweise vorherrschend zu betrachten.

GRAUMANN (1956 b) glaubt einen direkten Übertritt der Nebennierenmarkhormone aus den Markzellen in die Blutbahn an Hand einer schwächer ausfallenden PAS-Reaktion am Gefäßpol der chromaffinen Zellen („partielle Inkretentleerung“) und der Tropfenbildung an der gefäßlumenwärtigen Seite des Endothels nachweisen zu können. Ein vermehrtes Auftreten von chromaffinen Körnchen in Nebennierenmarkzellen am Gefäßpol im Dienste einer merokrinen Sekretion beschreibt BACHMANN (1954). Auf Grund elektronenmikroskopischer Beobachtungen schildern DE ROBERTIS und SABATINI (1960) eine Anlagerung osmiophiler Granula an den Gefäßpol der paraganglionären Zelle und eine anschließende Entleerung im Kontakt mit der Zellmembran. Entsprechend zeigen in den eigenen Untersuchungen mittels des Kryostaten geschnittene und mit dampfförmiger Osmiumsäure nachfixierte Organe am Gefäßpol der chromaffinen Zellen eine deutliche reihenförmige Anhäufung sudanophiler Granula. Diese am basalen Zellpol vermehrt vorkommenden Granula, die ebenso dem Bakertest unterzogene Markzellen zeigen, dürften für eine merokrine Sekretionsform der paraganglionären Zellen sprechen. Es wäre eine mögliche Arbeitshypothese, daß diese basale, merokrine Sekretion die normale Form der Inkretabgabe darstellt, während die indirekte, holokrine Sekretion im Sinne einer morphokinetischen Degeneration follikelbildender Zellen als Zeichen einer besonders starken Hormonausschüttung zu verstehen wäre, die im Zusammenhang mit der Exzitation bei Narkose und Dekapitation eintreten kann.

Bezüglich der perinukleären Territorien ist folgendes auszuführen: PAWLKOWSKI (1938) und BACHMANN (1954) beschreiben eine „Auslagerung von Kernsubstanz“ in das Zytoplasma der Nebennierenmarkzellen, die nach Splanchnikusreizung vermehrt auftreten soll (Versuche am Hund durch PAWLKOWSKI) und dann als basophile, halbmondförmige, perinukleäre Massen im Zellplasma beobachtet werden. Nach GRAUMANN (1956 b) beginnt die Bereitung der Nebennierenmarkhormone im Golgiapparat (ihm zufolge ein halbmondförmiges, PAS-positives Gebilde in Kernnähe), aus dem sie in das Zytoplasma diffundieren, um dann am Proteingranula ge-

bunden zu werden (Stapelform). Sich von den Membranen des Golgifeldes abschnürende Bläschen und eine Wanderung der aus letzteren durch zunehmende Osmiophilie des Bläscheninhalts entstehenden Granula zur Zellmembran beschreiben nach elektronenoptischen Befunden DE ROBERTIS und SABATANI (1960). In einiger Übereinstimmung wurde im Zuge der eigenen Untersuchungen in mit dampfförmigem Osmiumtetroxyd nachfixierten Kryostatschnitten eine Anhäufung lipoidhaltiger Granula in der Nähe des Markzellkerns — auf der Seite zum Gefäßpol hin — beobachtet. [Auch beim Meeresschweinchen liegt zufolge MAXIMOW und BLOOM (1942) der Golgiapparat zwischen Kern und nächstgelegener Kapillare.] Da einmal dieses Feld mit besonders zahlreich vorkommenden Granula oft zum Gefäßpol hin ausgezogen erscheint und in anderen Markzellen der basale Zellenbereich von einem zum Endothel parallelen Streifen eng gelegener Granula besetzt ist, dürfte es sich hierbei um das lichtmikroskopische Äquivalent der Bildung und Wanderung im Golgiapparat formierter Granula handeln.

Beträchtliche Schwierigkeiten bereitete in den eigenen Untersuchungen die Beurteilung der Granula der paraganglionären Zellen, die sich postmortal und in ungeeigneten Fixationsflüssigkeiten leicht auflösen (WATZKA 1943). Manchmal gewinnt man den Eindruck, als ob die nach verschiedenen Behandlungen erhaltenen Bilder verschiedene Körnchentypen zeigen. Über die differenten Zustandsformen bezüglich der Kerngröße, der Kornmenge usw. nach der Fixation in verschiedenen Flüssigkeiten im phasenkontrastmikroskopischen Bild sei auf die oben wiedergegebene Tabelle hingewiesen. Vermutlich treten die unterschiedlichen Granulagrößen sowie die diffuse Bräunung fixationsbedingt auf. Ferner ist das Hellysche Gemisch stark hypertonisch und möglicherweise in der Lage, auf die Membranen der Markzellgranula (BLASCHKO, HAGEN and WELCH 1955; WETZSTEIN 1957; DE ROBERTIS and VAS FERREIRA 1957 a, b; DE ROBERTIS and SABATINI 1960) einen starken osmotischen Druck ausüben, der den Inhalt der chromaffinen Körnchen heraustreten läßt.

Gegen eine Durchtränkung des Zytoplasma der paraganglionären Zellen sprechen die elektronenoptischen Befunde, die keine Anhaltspunkte für in größeren Mengen im Zellplasma der Phäochromozyten vorkommende Osmiumsäure stark reduzierende Katecholamine lieferten. So beobachtete WETZSTEIN (1957) in seinen prädominierenden „Hauptzellen“ osmiophile Granula von einheitlich etwa 175 nm $\varnothing$, die eine Membran besitzen und Träger des Adrenalins sein sollen. [Indes bezweifeln ERANKÖ und HÄNNINEN (1960), daß WETZSTEINS sog. Nebenzellen, die ihm zufolge Noradrenalin enthalten sollen, mit anderen, gröberen und unregelmäßig konturierten osmiophilen Körnern echte Markzellen sind. Damit in Übereinstimmung stehen die Ergebnisse von LEVER (1955) sowie DE ROBERTIS and VAS FERREIRA (1957 a, b, c), die keine Zellen beschreiben, welche den Nebenzellen WETZSTEINS gleichzustellen sind.]

Ebenso schwierig gestaltet sich die Frage nach der Realität differenter Markzelltypen. So werden neuerdings im Paraganglion suprarenale adrenalin- von noradrenalinhaltigen Zellen unterschieden. KLEIN und KRACHT (1958) geben eine Korre-

lation zwischen Katecholamingehalt und prozentualer Verteilung sog. A- und N-Zellen im Nebennierenmark verschiedener Spezies auf Grund der älteren Befunde anderer Autoren und ihrer eigenen Untersuchungen. Die aufgezeigten Unterschiede solcher differenter Typen chromaffiner Zellen beruhen jedoch meistens auf abweichenden Reaktionsausfällen auf Adrenalin bzw. Noradrenalin [fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen durch ERÄNKÖ 1955, Kaliumjodatreaktion von HILLARP und HÖKFELT 1953 (Abb. 4) sowie KLEIN und KRACHT 1958, Färbung mit Weigertschem Eisenhämatoxylin nach Fixation in Kaliumbichromat-Formol von KLEIN und KRACHT 1958]. BÄNDER (1950) unterscheidet weiter Adrenalin von Noradrenalin enthaltenden Zellen nach differenten Kernvolumina, jedoch haben PAWLIKOWSKI (1938) und BACHMANN (1954) eine mit dem Funktionszustand veränderliche Größe der Markzellkerne beschrieben, so daß das Kernvolumen nur mit Vorsicht als signifikantes Unterscheidungsmerkmal der genannten Zellen herangezogen werden kann.

Die eigenen Untersuchungen ergaben keinerlei charakteristische morphologische Unterschiede zwischen den rindennahen und den zentralen Nebennierenmarkszellen. Abweichungen in der Tingierbarkeit usw. treten sowohl unter den Zellen der Markrandschale (KLEIN und KRACHT 1958) als auch unter den zentral gelegenen paraganglionären Elementen auf und können zwanglos auf unterschiedliche Funktionszustände zurückgeführt werden. Unter diesen Umständen läßt sich weder bejahen noch bestreiten, ob unterschiedliche Markzelltypen vorliegen. An Hand der abseits der auf den Nachweis von Noradrenalin oder Adrenalin hinzielenden Reaktionen erhaltenen chemohistologischen Ergebnisse in Zusammenhang mit dem beobachteten Monomorphismus der Markzellen möchte man jedoch eher geneigt sein, den histogenetischen Verhältnissen entsprechend einen paraganglionären Zelltyp mit unterschiedlicher funktioneller Prägung anzunehmen, dem evtl. eine differente Enzymausrüstung (vgl. ERÄNKÖ 1952; ARVY 1960, 1961; zusammenfassende Literatur bei ARVY 1963) zuzubilligen wäre.

2. Chemohistologie

Zu den hier benutzten Polysaccharidreaktionen sei bemerkt, daß die Halesche sowie die Perjodsäureleukofuchsinreaktion keineswegs spezifisch sind, sondern eine Reihe verschiedener Substrate zu erfassen vermögen.

GRAUMANN (1956 a) zufolge wird Noradrenalin durch Anwendung chromat- und bichromathaltiger Flüssigkeiten zu Noradrenochrom oxydiert, das rasch in unlösliche im einzelnen nicht bekannte Polymerisationsprodukte übergeht. Ähnlich soll es sich mit Adrenalin verhalten, falls das wegen seiner tertiären Aminogruppe nicht perjodreaktive Adrenochrom als Chinhydron vorliegt. Die Polymerisationsprodukte weist GRAUMANN mit der Perjodsäureleukofuchsinreaktion (PJS = PAS) nach. Unterschiedliche Reaktion der chromaffinen Zellen werden auf quantitative, nicht auf qualitative Unterschiede bezüglich des Vorkommens von Adrenalin bzw. Noradrena-

lin bezogen. Die von GRAUMANN (1956 b) geschilderten Beobachtungen über den Ausfall der PAS-Reaktion an nach HELLY fixiertem Nebennierenmark adulter Goldhamster können bestätigt werden. Das PAS-reaktive Substrat ist teilweise diffus im Zytoplasma der Markzellen verteilt, z. T. in Form von Granula und den von GRAUMANN beschriebenen sog. „kugeligen Systemen“ und „Kernkappen“ anzutreffen.

Die eigenen Untersuchungen zeigten jedoch weiter, daß diese Gebilde GRAUMANNs nicht nach Fixierung in anderen Flüssigkeiten, weder in Kaliumbichromat-Formol, noch in solchen, die andere stark oxydierende Substanzen, wie Kaliumpermanganat, Kaliumjodat oder Osmiumtetroxyd, enthalten, mit der PAS-Reaktion sichtbar gemacht werden können, so daß solche Bilder nur mit großer Zurückhaltung als Phasen einer Inkretbereitung bzw. -stapelung im Sinne GRAUMANNs gedeutet werden dürften. Weiterhin besteht die Wahrscheinlichkeit, daß die Perjodsäureleukofuchsinreaktion nicht nur die Polymerisationsprodukte der Nebennierenmark-hormone erfaßt, sondern ebenso andere karbonylgruppenhaltige Substrate (z. B. Lipide, deren Vorkommen in den Nebennierenmarkzellen die eigenen Befunde belegen), wodurch eine präzise Histotopochemie der Katecholamine unmöglich würde.

In mit dampfförmigem Osmiumtetroxyd nachfixierten Kryostatschnitten nativer Organe sowie nach Fixation in Hellyschem Gemisch und — wenn auch schwächer — in Carnoischer Flüssigkeit läßt sich mit der Haleschen Reaktion in den Nebennierenmarkzellen ein instabiles, halepositives Substrat nachweisen, das nach der Fixation in Bouinscher Lösung sowie in Formol nicht erfaßbar ist. Da einmal in mittels Carnoy-scher Flüssigkeit fixiertem Nebennierenmark kaum eine positive PAS-Reaktion in den paraganglionären Zellen zu erkennen ist, andererseits in mit Osmiumtetroxyd nachfixierten Kryostatschnitten die Perjodsäureleukofuchsinreaktion an Granula gebunden erscheint, die Halesche Reaktion dagegen verwaschen im gesamten Zytoplasma der Markzellen auftritt, werden offenbar mit den genannten Reaktionen verschiedene Substrate erfaßt. Die mit der Haleschen Methode nachgewiesenen sauren Gruppen können z. T. zwar mit den Phosphatgruppen der Esterphosphatide der Granula (Bakertest) identisch sein, kommen aber auch in anderer Form in Zytoplasma der chromaffinen Zellen vor. Ribonukleinsäure als reagierendes Substrat konnte mittels des Brachettestes, der Färbung mit Gallozyanin-Chromalaun sowie der gezielten Fluorochromierung mit Akridinorange ausgeschlossen werden. Es sei darauf verwiesen, daß zufolge GEYER (1959) durch lang dauernde Oxydation während der Bichromatbehandlung neue Karboxylgruppen, die einen Anstieg der Bindungsfähigkeit für das Ferrihydroxydsol zur Folge haben, entstehen können.

Obwohl die chemische Analyse im Nebennierenmark kaum weniger Lipide, hauptsächlich Cholesterin, als in der Rinde erbringt (LEULIER und REVOL 1931), versagten nach BACHMANN (1954) bisher histochemische Methoden, Fette oder fettähnliche Stoffe in den chromaffinen Zellen nachzuweisen. Entsprechend sind in den

eigenen Untersuchungen die Markzellen des Goldhamsters nach Fixierung in Formol und selbstverständlich in Bouinscher sowie in Carnoyscher Flüssigkeit sudanophob. Zu bedenken ist jedoch, daß in formolfixiertem Material chemisch und chemohistologisch weniger Lipide als in nativem nachweisbar sind (KUTSHERA-AICHBERGEN 1925, DOLFINI 1929, EHRENBRAND 1961). Außerdem können KUTSHERA-AICHBERGEN zufolge Lipide dem histochemischen Nachweis entgehen, wenn sie in stark dispersem Zustand oder als Lipoproteinverbindungen vorliegen. Ein Fettnachweis mit oxydierenden Substanzen, wie Osmiumtetroxyd, ist deswegen ungenau, weil die Inkrete des Nebennierenmarks Adrenalin und Noradrenalin selbst stark reduzieren. Ähnlich vermag das Hellysche Gemisch sowohl Lipide als auch Katechloramine zu stabilisieren.

Die eigenen Untersuchungen zeigten hinsichtlich der Markzellen-Lipide folgende Verhältnisse auf: Nach HELLY fixiertes Nebennierenmark wird mit dem Fettfarbstoff Sudanschwarz B deutlich tingiert. Bezüglich der Lokalisation der so erfaßten Lipide ist eine weitgehende Übereinstimmung mit dem Ausfall der PAS-Reaktion an ebenso fixiertem Material im Zytoplasma der chromaffinen Zellen auffällig. In mit dampfförmigem Osmiumtetroxyd nachfixierten Kryostatschnitten nativer Organe fällt die Sudanschwarzfärbung sogar stärker aus als die Perjodsäureleukofuchsinreaktion; die kräftigere Sudanophile ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß Osmiumtetroxyd Karbonyl- nicht nur zu Aldehydgruppen, sondern noch weiter oxydiert, aber lediglich stabile Aldehydgruppen mit dem Schiffschen Reagens eine Rotfärbung hervorrufen (PEARSE 1960). Der Bakertest (spezifisch für Phospholipide) zeitigt eine kräftige Schwärzung in granulärer Form innerhalb des Markzellzytoplasmas, die nach Pyridinextraktion nicht mehr mit saurem Hämatoxylin erfaßbar ist und damit für die Beteiligung von Esterphosphatiden am Aufbau der Granula spricht. Es darf daher angenommen werden, daß

1. in den Nebennierenmarkzellen (Phospho-) Lipide vorkommen, die perjordreaktiv sind, und
2. solche Lipide mit den Polymerisationsprodukten der Katecholamine vergesellschaftet auftreten.

BLASCHKO, HAGEN und WELCH (1955) nehmen auf Grund biochemischer Versuche an, daß die Nebennierenmarkhormone in Form von Granula mit semipermeabler Wand vorliegen, und vermuten eine Bindung (des Adrenalin) entweder an Lipide, an Metalle oder als positive Ionen an negative Gruppen (Karboxy-, Sulfat- oder Phosphatgruppen). Die obengenannten Befunde machen eine Bindung der Katecholamine an Lipide wahrscheinlich. Die homogenen PAS-reaktiven und ebenso sudanophilen Massen in den Markgefäßen — sie fehlen in den Rindengefäßen — sprechen dafür, daß bei der Entleerung der Granula am Gefäßpol der Zelle (DE ROBERTIS und SABATINI 1960) mit den Katecholaminen auch Lipide frei werden und in die Gefäße gelangen.

Im Zytoplasma der Nebennierenmarkzellen diffus vorkommendes sudanophiles und PAS-positives Substrat ist in nach HELLY fixierten Organen vorhanden, kann aber in mit dampfförmigem Osmiumtetroxyd nachfixierten Kryostatschnitten weder mit Sicherheit festgestellt, noch dessen Anwesenheit ausgeschlossen werden (Instabilität!). Der Bakertest spricht gegen eine diffuse Verteilung des Esterphosphatide im Paraganglion suprarenale.

Unterstellt man, daß die in verschiedenen Methoden aufgezeigten Granula identisch sind, ergeben sich zur Deutung der obengenannten unterschiedlichen Befunde unter Berücksichtigung elektronenoptischer Ergebnisse folgende Möglichkeiten:

1. Das Hellysche Gemisch bewirkt keine genügende Stabilisation der Markinkrete in Form von Granula, letztere werden in der stark hypertonen Lösung ausgelaugt und teilweise zerstört, diffuse PAS-Reaktivität und Sudanophilie sind die Folge.
2. Bei den Lipoidnachweisen (Sudanschwarz B und Bakertest) werden verschiedene Substanzen sichtbar gemacht. Esterphosphatide sind an einer Membran- oder Kapselbildung der phäochromen Granula beteiligt, innerhalb, möglicherweise auch außerhalb derer an andere fettähnliche Substanzen gebundene Nebennierenmarkhormone vorkommen.

Solche lipoidhaltigen Granula, die chemohistologisch gleichartig wie das nach GRAUMANN (1956 a) PAS-positive und Katecholaminen gleichzusetzende Substrat reagieren, haben Veranlassung zur Annahme des oben geschilderten merokrinen Sekretionsmodus des Nebennierenmark gegeben.

Da mittels des Brachetttestes und der Gallozyanin-Chromalaun-Methode unter Heranziehung der Ribonukleasekontrolle sowie der gezielten Fluorchromierung mit Akridinorange keine zytoplasmatischen Ribonukleinsäuren in den paraganglionären Zellen festgestellt werden konnten, ist eine direkte Beteiligung von Ribonukleinsäuren an der Produktion der Nebennierenmarkhormone oder irgendwelcher Träger-substanzen unwahrscheinlich.

Die von GRAUMANN geschilderten halbmondförmigen „Kernkappen“ und „kugelige Systeme“ konnten in den eigenen Untersuchungen nur in den nach HELLY fixierten Organen nachgewiesen werden. Sie sind halenegativ, dagegen PAS-positiv, sudanophil und chromaffin. Zuzufolge GRAUMANN handelt es sich bei ihnen um den Ausdruck verschiedener Phasen der Inkrethildung, insbesondere bei den „Kernkappen“ um die Produktion der Markhormone in Golgizonen. Ihm zufolge wird möglicherweise die Reaktion der Katecholamine hier von zum Golgiapparat gehörigen Phospholipoiden überlagert. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß bei der Polymerisation der oxydierten Markinkrete in Verbindung mit Lipoiden eine Verschmelzung besonders labiler oder sehr eng zusammenliegender Granula stattfindet und so „kugelige Systeme“ entstehen. Bei mit dampfförmigem Osmiumtetroxyd

nachfixierten Kryostatschnitten nativer Organe sind solche Elemente nicht erfaßbar, wohl aber Anhäufungen sudanophiler Granula in der Nähe des Markzellkerns, die auf eine Bildung von Lipoiden, möglicherweise der Träger- oder Membranlipoiden für die chromaffinen Granula, schließen lassen und andererseits vielleicht (in ungeeigneten Fixationsflüssigkeiten) zur Aggregatbildung neigen. In ähnlicher Weise mögen die zum Gefäßpol der Nebennierenmarkszelle wandernden, hier reihenförmig liegenden und sich entleerenden Granula zur Bildung der „kugeligen Systeme“ GRAUMANNs führen.

Im Gegensatz zu diesen „kugeligen Gebilden“, die im Zytoplasma der Markzellen aller nach HELLY fixierten Organe adulter Goldhamster vorkommen, konnte nur in einer in Carnoyscher Flüssigkeit fixierten Nebenniere sog. Kolloidkugeln im Zytoplasma paraganglionärer Zellen beobachtet werden. Zuzufolge GRAUMANN (1956 b) stellen sie eine Abwegigkeit normaler Inkretbildung dar. Da sie jedoch nach Äther-Alkohol-Chloroform-Fixierung (CARNOY) PAS-positiv sind, dürfte es fraglich erscheinen, ob das mit der Perjodsäureleukofuchsinreaktion nachgewiesene Substrat einem Polymerisationsprodukt der Nebennierenmarkshormone entspricht. Vermerkt sei, daß FRAZAO (1952) ein gehäuftes Auftreten solcher Kolloidkugeln bei Infektionskrankheiten im menschlichen Nebennierenmark beschreibt.

V. Zusammenfassung

1. Im Nebennierenmark des Goldhamsters bilden die paraganglionären Elemente sowohl solide Zellhaufen als auch echte Follikel, wobei in Markzellgruppen einsprossende Gefäße follikelähnliche Gebilde entstehen lassen können.

2. Morphologisch kann im Paraganglion suprarenale eine merokrine von einer holokrinen Sekretionsform unterschieden werden.

3. Morphologie, Topographie sowie chemohistologische Beziehungen der in den Markzellen auftretenden Granula werden unter Berücksichtigung elektronenoptischer Ergebnisse anderer Autoren besprochen.

4. In den Markzellen werden reichlich (Phospho-)Lipide in granulärer Form nachgewiesen, die in Kernnähe gebildet und bei merokrinem Sekretionsmodus nach basal verlagert werden.

5. Die PAS-positiven kugeligen Gebilde („Systeme“) GRAUMANNs werden ausschließlich nach Fixation in Hellyschem Gemisch angetroffen.

6. Die positive PAS-Reaktion der paraganglionären Zellen entspricht ihrer Sudanophilie. Ein prinzipieller chemischer Zusammenhang mit Adrenalin und Noradrenalin erscheint zweifelhaft. Jedoch wird vermutet, daß die Katecholamine *in vivo* an PAS-positive in Granulaform auftretende Lipide gebunden vorkommen.

7. Differenten Markzelltypen können nicht unterschieden werden. Abweichungen im Zellbild können zwanglos mit unterschiedlichen Funktionszuständen in Verbindung gebracht werden.

VI. Literatur

- ARVY, L., Contribution à l'histoenzymologie de la glande surrénale chez *Bos taurus* L. adulte. C. R. Acad. Sci. (Paris) **251**, 2782—2784 (1960).
- Données histoenzymologiques sur la glande surrénale d'*Ories aries* L. (Ovinae, Baird, 1857) var. des Causses du lot. C. R. Soc. Biol. Paris) **155**, 25—27 (1961).
- Histoenzymologie des Glandes endocrines. Verlag: Gauthier Villars, Paris 1963.
- BACHMANN, R., Die Nebenniere. In: v. MÖLLENDORFF-BARGMANN, Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. VI/5. Springer-Verlag: Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954.
- BAKER, J. R., zit nach W. LIPP, Histochemische Methoden, Lief. XVI, 18—22. Verlag: R. Oldenbourg, München (1958).
- BÄNDER, A., Über zwei verschiedene chromaffine Zelltypen im Nebennierenmark und ihre Beziehungen zum Adrenalin- und Arterengehalt. Verh. Anat. Ges., Anat. Anz. **97**, 172—176, Erg.-H. (1950).
- BLASCHKO, H., HAGEN, P., and WELCH, A. D., Observations on the intracellular granules of the adrenal medulla. J. Physiol. **129**, 27—49, (1955).
- DOLFINI, G., Su un nuovo metodo di colorazione dei grassi. Bull. Histol. appl. **6**, 137—141 (1929).
- EHRENBRAND, F., Beiträge zur Morphokinese der Nebennierenrinde bei experimenteller Hyperthyreose. Anat. Anz. **101**, 41—63 (1954).
- Sind die sogenannten „fuchsinophilen“ Zellen der Nebennierenrinde spezifische Androgenbildner? Morphologische und histotopochemische Untersuchungen an Meerschweinchen- und Rattenorganen. Acta histochem. **7**, 1—73 (1959a).
- Segmentierte (markreiche) Nervenfasern im Nebennierenmark der weißen Ratte. Anat. Anz. **107**, 340—346 (1959b).
- Beiträge zur Orthologie der lactierenden Milchdrüse. (Lichtmikroskopische, elektronenoptische, polarisations- und fluoreszenzmikroskopische sowie chemohistologische Untersuchungen). Habilitationsschrift Mainz (1961), Acta histochem. (im Druck).
- ERANKÖ, O., On the histochemistry of the adrenal medulla of the rat, with special reference to the acid phosphatase. Acta Anat. Suppl. 17 ad V. 16 (1952).
- Histochemistry of Noradrenalin in the adrenal medulla of the rats and mice. Endocrinology **57**, 363—368 (1955a).
- Nodular hyperplasia and increase of noradrenalin content by nicotine-treated rats. Acta path. microbiol. Scand. **36**, 210—228 (1955b).
- Effect of insulin on chromaffin reaction, fluorescing isles and catechol amines in the adrenal medulla of the rat. Acta path. microbiol. Scand. **36**, 219—223 (1955c).
- Distribution of adrenalin and noradrenalin in the adrenal medulla. Nature **175**, 88—89 (1955d).
- Fluorescing islets, adrenalin and noradrenalin in the adrenal medulla of some common laboratory animals. Ann. med. exper. biol. Fenniae **33**, 278—290 (1955e).
- Distribution of fluorescing islets, adrenalin and noradrenalin in the adrenal medulla of the hamster. Acta endocrinol. (K'hvn) **18**, 174—179 (1955f).
- and HÄNNINEN, L., Electron microscopic observations on the adrenal medulla of the rat. Acta path. microbiol. Scand. **50**, 126—132 (1960).
- FRAZAO, J. V., Corpuscules sphéroïdes dans la médulla surrénale de l'homme et du cheval. C. r. Soc. Biol. (Paris) **146**, 956—958 (1962).

- GEYER, G., Histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Nebenniere von *Rana esculenta*. Acta histochem. **8**, 234—288 (1959).
- GRAUMANN, W., Zur Standardisierung des Schiffschens Reagens. Z. Wiss. Mikrosk. **61**, 225—226 (1953).
- Topochemische Untersuchungen über die peroxidreaktiven Stoffe in der Nebenniere des Goldhamsters. Acta histochem. **2**, 237—258 (1956a).
- Beobachtungen über Bildung und Sekretion peroxidreaktiver Stoffe im Nebennierenmark des Goldhamsters. Z. Anat. Entw. **119**, 415—430 (1956b).
- HILLARP, N. A., and HÖKFELT, B., Evidence of adrenalin and noradrenalin in separate adrenal medullary cells. Acta physiol. Scand. **30**, 55—68 (1953).
- — Histochemical demonstration of noradrenalin and adrenalin in the adrenal medulla. J. Histochem. a. Cytochem. **3**, 1—5 (1955).
- HION, J. V., Zur Histologie der Nebennieren bei erschöpften Tieren. Fol. neuropath Eston. **7**, 178—189 (1927).
- KLEIN, U., und KRACHT, J., Über Hormonbildungsstätten im Nebennierenmark. Endokrinol. **35**, 259—280 (1958).
- KRACHT, J., und KLEIN, G., Bildungsstätten der Nebennierenmarkhormone. Verh. Dtsch. ges. Path. **41**, 171—176 (1958).
- KOHN, A., Morphologie der inneren Sekretion und der innersekretorischen Organe. In: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie XVI/1, 1—66 (1930).
- KOLMER, W., Zur vergleichenden Histologie, Zytologie und Entwicklungsgeschichte der Säugetiernebenniere. Arch. mikrosk. Anat. **91**, 1—139 (1918).
- KUTSCHERA-AICHBERGEN, H., Beitrag zur Morphologie der Lipotide. Virch. Arch. **256**, 569—594 (1925).
- LEULIER, A., et REVOL, L., Recherches chimiques sur les capsules surrénales des mammifères. Étude comparée de la zone médullaire. Zit. nach BACHMANN, R., Die Nebenniere. In: v. MÖLLENDORFF-BARGMANN, Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. VI/5. Springer-Verlag: Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954.
- LEVER, J. D., Electron microscopic observations on the normal and denervated adrenal medulla of the rat. Endocrinol. **57**, 621—635 (1955).
- MAIER, J., Untersuchungen über die Struktur der Follikel des Goldhamsters und den Adrenalin-nachweis im histologischen Schnitt. Wiss. Z. Univ. Jena, Math.-Nat. Reihe **9**, 515—526 (1960).
- MAXIMOW, A., and BLOOM, W., Zit. nach BACHMANN, R., Die Nebenniere. In: v. MÖLLENDORFF-BARGMANN, Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. VI/5. Springer-Verlag: Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954.
- PAWLIKOWSKI, T., Sur les altérations morphologiques du noyau des cellules chromaffines. Bull. Histol. appl. **15**, 149—164 (1938).
- PEARSE, A. G. A., Histochemistry, theoretically and applied. Verlag J. & A. Churchill: London 1961.
- DE ROBERTIS, E. D. P., and VAS FERREIRA, A., Electron microscope study of the excretion of catechol-containing droplets in the adrenal medulla. Exp. Cell. Res. **12**, 568—574 (1957a).
- — A multivesicular catechol-containing body in the adrenal medulla of the rabbit. Exper. Cell. Res. **12**, 575—581 (1957b).

- DE ROBERTIS, E. D. P., and VAS FERREIRA, A., Submicroscopic changes of the nerve endings in the adrenal medulla after stimulating of the splanchnic nerve. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **3**, 611—614 (1957c).
- and SABATINI, D. D., Submicroscopic analysis of the secretory process in the adrenal medulla. *Fed. Proc.* **19**, Suppl. 5, 70—78 (1960).
- SCHARF, J. H., EHRENBRAND, F., und FÖRSTER, W., Zytologische Untersuchungen über die Korrelation zwischen Hypophysenvorderlappen und Schilddrüse bei der Ratte unter Jodbelastung. *Zschr. Zellforsch.* **41**, 132—171 (1954).
- Zwischenhirnabhängige Korrelationen zwischen Hypophysenvorderlappen und Schilddrüse im Dienste der Wärmeregulation. *Acta neurovegetativa* **11**, 100—123 (1955).
- SCHEEL, O., Über Nebennieren. Sekretkörnchen — Ödem — Gewicht. *Virch. Arch.* **192**, 494—513 (1908).
- WALLRAFF, J., Histochemische Untersuchungen an den Nebennieren des erwachsenen Menschen. *Z. Zellforsch.* **34**, 362—427 (1949).
- WATZKA, M., Über die Verbindung inkretorischer und neurogener Organe. *Verh. Anat. Ges. Anat. Anz.* **71**, Erg.-H. (1931).
- Physiologische Veränderungen der Schilddrüse. *Zschr. mikrosk.-anat. Forschung* **36**, 67—86 (1934).
- Kapillarhyperämie und Epithelabschilferung in der Schilddrüse Erfrorener. *Zschr. mikrosk.-anat. Forschung* **51**, 73—86 (1942).
- Die Paraganglien. In: V. MÖLLENDORFF-BARGMANN, Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. VI/4, Springer-Verlag: Berlin 1943.
- WETZSTEIN, R., Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Nebennierenmark von Maus, Meerschweinchen und Katze. *Zschr. Zellforsch.* **46**, 517—576 (1957).

Anschrift des Verfassers: Dr. med. DIERK FRANZEN, Anatomisches Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, Saarstraße 21.

LEBENS LAUF

Als Sohn des Architekten Werner Franzen und seiner Frau Ruth, geb. Boueke, wurde ich am 17. Mai 1935 in Witten an der Ruhr geboren.

In den Jahren 1938 bis 1947 lebte ich in Suhl in Thüringen, wo mein Vater bis zum Kriegsende Stadtbaurat war; dort besuchte ich die Volks- und spätere Einheitsschule, nach der Rückkehr in meinen Geburtsort (1947) das Städtische Gymnasium Witten.

Im Frühjahr 1957 legte ich dort meine Reifeprüfung ab und begann sofort mit dem Medizinstudium in Mainz. Hier bestand ich im Oktober 1959 die Ärztliche Vorprüfung und am 12. Dezember 1962 das medizinische Staatsexamen.

Ergebensten Dank

schulde ich dem Direktor des Anatomischen Institutes, Herrn Professor Dr. Dr. Dr. h. c. A. Dabelow für die Überlassung eines Arbeitsplatzes.

Ebenso herzlichen Dank sage ich Herrn Privatdozenten Dr. F. Ehrenbrand für die Überlassung des Themas sowie für den wissenschaftlichen Rat und die Unterstützung während meiner Studien.

Ergaben Dank

Ich bin der Ansicht, dass die Arbeit der Kommission, die Sie im Auftrag der Akademie der Wissenschaften und der Literatur der Preussischen Akademie der Wissenschaften geleitet haben, eine wichtige Rolle bei der Klärung der Fragen der Naturgeschichte der Erde und der Tierwelt spielen wird. Ich bin der Ansicht, dass die Arbeit der Kommission, die Sie im Auftrag der Akademie der Wissenschaften geleitet haben, eine wichtige Rolle bei der Klärung der Fragen der Naturgeschichte der Erde und der Tierwelt spielen wird.

